

Efecto de las tetraciclinas sobre la fosfatasa alcalina y las disacaridasas intestinales de rata

P. Fernández-Otero y M. A. Lamas-Aneiros

Laboratorio de Fisiología Animal
Facultad de Farmacia
Universidad de Santiago de Compostela (España)

(Recibido el 24 de abril de 1973)

P. FERNANDEZ-OTERO and M. A. LAMAS-ANEIROS. *Effect of Tetracyclines on Alkaline Phosphatase and Intestinal Disaccharidase in the Rat*. Rev. esp. Fisiol., 30, 5-8. 1974.

Changes in several enzymatic activity of the epithelium of rat small intestine caused by oral administration of tetracyclines (chloride, base and phosphate, for 1, 2 or 4 weeks) were studied. A significant decrease in lactase and saccharase activities was observed, while those of alkaline phosphatase and maltase were less affected.

Aunque los antibióticos habitualmente utilizados son poco tóxicos, algunas veces su administración se acompaña de alteraciones intestinales que obligan a interrumpir el tratamiento.

Un método de interés para valorar cuantitativamente dichos efectos tóxicos, consiste en el estudio de algunos enzimas presentes en la mucosa intestinal. Basados en este hecho y en los trabajos de GREENBERGER (2), que ha demostrado que la tetraciclina inhibe la síntesis de proteínas en el intestino de rata, se proyectó el presente trabajo en el que se pretendió estudiar la influencia de las tetraciclinas sobre la maltasa, sacarasa, lactasa y fosfatasa alcalina, enzimas de gran interés fisiológico y de los que se sabe que en algunos casos la disminución de su actividad produce trastornos diarreicos.

Material y métodos

Se han utilizado ratas Wistar adultas de peso comprendido entre 150-250 g. Los animales han estado sometidos a la administración diaria de tetraciclina en forma de clorhidrato, base y fosfato, mediante una dosis diaria de 200 mg/kg/día (1 ml por 100 g de peso) por vía oral, utilizando sonda intragástrica, durante períodos de 1, 2 y 4 semanas.

Después de cada período, las ratas, en ayunas de 24 horas (agua *ad libitum*) se sacrificaron por decapitación. Se les extrajeron los dos tercios proximales del intestino delgado. Después de lavarlo repetidamente con suero salino frío, se abrió longitudinalmente, lavándolo de nuevo hasta dejarlo libre de todo contenido intestinal. Se secaba ligeramente sobre pa-

pel de filtro y la mucosa se separaba con una espátula.

Los fragmentos de mucosa así obtenidos se homogenizan con nueve veces su peso en agua destilada fría en un homogenizador Pobel operado manualmente. El homogenado se diluye en agua destilada en proporción adecuada para cada enzima a valorar.

Los enzimas han sido estudiados mediante los métodos desarrollados por Sols y de la FUENTE (7). Para la fosfatasa alcalina se ha utilizado glucosa-1-fosfato como sustrato y estimando la glucosa liberada con un reactivo de glucosa-oxidasa-peroxidasa-cromógeno.

Las actividades maltasa, sacarasa y lactasa se medían por la glucosa liberada, estimada colorimétricamente también con la glucosa-oxidasa. Se verifica por tratamiento directo de la mezcla incubada con un reactivo de glucosa-oxidasa-peroxidasa-cromógeno, conteniendo Tris para disminuir la actividad de las glicosidasas a un nivel fácilmente controlable.

El reactivo de glucosa-oxidasa utilizado ha sido «Glucostat» de Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo. (USA). Se utilizó el Spectronic-20 para verificar las lecturas de las intensidades de color.

Resultados

En la tabla I se recogen los resultados de las actividades de los distintos enzimas ensayados y el número de animales utilizado en cada experimento. Se dan los valores medios correspondientes a los animales normales y a los tratados con las diversas tetraciclinas durante periodos diferentes de tiempo.

Discusión

Los resultados obtenidos en ratas que han estado sometidas al tratamiento con tetraciclinas indican un complejo mecanismo de acción de los antibióticos que se traduce en resultados diversos según el enzima estudiado y la tetraciclina empleada

Tabla I. *Efecto de la tetraciclina sobre la actividad de la fosfatasa alcalina y de las disacaridasas intestinales de rata.*

Actividad en $\mu\text{moles/mg}$ proteína/hora. Las cifras indican los valores medios $\pm$ su error estándar. Se han calculado los límites de confianza de la media con probabilidad $P < 0,01$. Entre paréntesis número de animales por grupo.

Tratamiento en semanas	Maltasa	Sacarasa	Fosfatasa	Lactasa
Normales	(11) $7,93 \pm 0,28$	(11) $2,39 \pm 0,19$	(9) $16,50 \pm 0,93$	(8) $0,27 \pm 0,007$
Tetraciclina clorhidrato				
1	(14) $6,73 \pm 0,68^{**}$	(13) $1,28 \pm 0,15^{*}$	(10) $21,48 \pm 1,88^{**}$	(8) ----- *
2	(11) $5,66 \pm 0,52^{*}$	(11) $1,55 \pm 0,17^{*}$	(11) $21,24 \pm 3,81^{**}$	(8) $0,16 \pm 0,007^{*}$
4	(9) $7,55 \pm 0,75^{**}$	(14) $1,41 \pm 0,17^{*}$	(11) $22,77 \pm 2,01^{*}$	(8) $0,11 \pm 0,01^{*}$
Tetraciclina base				
1	(9) $8,45 \pm 0,39^{**}$	(9) $1,58 \pm 0,17^{*}$	(11) $27,33 \pm 1,07^{*}$	(8) ----- *
2	(9) $10,70 \pm 0,66^{*}$	(9) $1,77 \pm 0,12^{**}$	(12) $20,18 \pm 2,04^{**}$	(8) $0,03 \pm 0,007^{*}$
4	(13) $8,62 \pm 0,39^{**}$	(15) $1,54 \pm 0,06^{*}$	(14) $21,26 \pm 1,14^{*}$	(8) $0,05 \pm 0,11^{*}$
Tetraciclina fosfato				
1	(16) $7,78 \pm 0,28^{**}$	(15) $1,82 \pm 0,14^{**}$	(12) $24,87 \pm 1,88^{*}$	(8) ----- *
2	(9) $8,56 \pm 0,50^{**}$	(9) $1,98 \pm 0,18^{**}$	(12) $20,18 \pm 1,95^{**}$	(8) $0,10 \pm 0,01^{*}$
4	(9) $8,82 \pm 0,71^{**}$	(11) $1,82 \pm 0,15^{**}$	(10) $25,44 \pm 3,20^{*}$	(8) $0,19 \pm 0,01^{*}$

* Significativo.

** No significativo.

La actividad enzimática de la lactasa intestinal experimenta una gran disminución en los animales tratados frente a los controles. También la actividad sacarasa desciende, aunque no de forma tan manifiesta.

Estos hechos están de acuerdo con TYTGAT *et al.* (8), los cuales encuentran que las intolerancias de disacáridos más frecuentemente encontradas son sobre la lactasa y sacarasa, observando que la lactasa es el enzima más sensible a toda suerte de lesión de la mucosa intestinal.

Estas disminuciones de las actividades enzimáticas serán debidas quizás a inhibición en la biosíntesis enzimática, ya que la tetraciclina a dosis adecuadas produce inhibiciones en la incorporación de aminoácidos en las proteínas de gran número de tejidos de rata, independientemente de la vía de administración (1, 3, 5, 6, 9). Lo mismo ocurre con otros antibióticos (1).

Con respecto a la actividad de la fosfatasa alcalina, sólo se aprecia un ligero incremento, significativo en la primera y cuarta semana de tratamiento con la tetraciclina fosfato y con la base. Y a la cuarta semana de tratamiento con la tetraciclina clorhidrato.

La maltasa es quizás el enzima menos afectado, aunque puede observarse que bajo el tratamiento con la tetraciclina clorhidrato experimenta un descenso significativo en la segunda semana, mientras que con la tetraciclina base se observa un incremento, también en la segunda semana de tratamiento.

Este diferente comportamiento observado podría deberse al tiempo de tratamiento (4), así como al tipo de tetraciclina administrada, ya que al estar unida a distintos aniones, el grado de absorción y eliminación es diferente. Por otro lado, la dosis empleada pudiera ser suficiente para producir disminución en la actividad de

enzimas tan sensibles como la lactasa y sacarasa, pero no, en cambio, sobre la maltasa y fosfatasa alcalina, ya que parece ser que el antibiótico no produce daño generalizado de la mucosa del intestino delgado de rata (9).

En cuanto al ligero incremento encontrado en la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina y en alguna maltasa, podría estar relacionado con una disminución en la formación de productos tóxicos y bacterianos que normalmente interfieren los procesos metabólicos relacionados con la síntesis de estos enzimas.

Resumen

Se estudian las variaciones provocadas en diversas actividades enzimáticas del epitelio de intestino delgado de rata por tratamiento con tetraciclinas (clorhidrato, base y fosfato) administradas por vía oral durante 1, 2 y 4 semanas. Las actividades lactasa y sacarasa disminuyen muy significativamente. La fosfatasa alcalina y la maltasa son, en cambio, muy poco afectadas.

Bibliografía

1. FRANKLIN, T. J.: *Biochem. J.*, **84**, 110, 1962.
2. GREENBERGER, N. J.: *Nature*, **214**, 702, 1967.
3. LING, V., y MORIN, C. L.: *Biochim. Biophys. Acta*, **249**, 252, 1971.
4. MARANO, R., PASTORE, G., MANGHISI, O., y SCHIRALDI, O.: *Experientia*, **25**, 1284, 1969.
5. NICOLOV, T. K., e ILKOV, A. T.: *Abst. Fifth Intern. Congr. Biochem.*, **2**, 102, 1961.
6. SHILS, M. E.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **3**, 321, 1962.
7. SOLS, A., y FUENTE, G. DE LA: En «Methods in Medical Research». Vol. 9 (J. H. QUASTEL). Year Book Medical Publ., Inc. Chicago, 1961, p. 302.
8. TYTGAT, G., RUTGGERTS, L., VANTRAPPEN, G., y VANDENBROUCK, E.: *Rev. Frac. Gastroen.*, **67**, 61, 1971.
9. YEN, S. D., y SHILS, M. E.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **121**, 729, 1966.

